© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Das Alpenmurmeltier (*Marmota m. marmota*) — eine genetisch verarmte Tierart?

Biochemisch-genetische Analysen von Graubündner Vorkommen geben Antwort

U. BRUNS, A. HAIDEN & F. SUCHENTRUNK

Abstract

A total of 282 Alpine marmots (*Marmota marmota*) from three local populations of the canton Grisons (Switzerland) was screened for allelic variability at 48 isozyme loci by horizontal starch gel electrophoresis. It was our aim to test the hypothesis put forward by PRELEUTHNER & PINSKER (1993) assuming a "species-wide depletion of genetic variability". Based on a sample of 25.436 genes investigated, eight loci (out of 48) were found polymorphic. The overall rate of polymorphism (16,7 %) was significantly higher compared to the marmot populations from the Eastern Alps studied earlier. The H_e/P-rates of the presently analyzed populations were well in the range found in "undisturbed" (i.e., without bottleneck history) populations of various mammalian species. Thus, the species-wide depletion hypothesis of Alpine marmots cannot be further maintained.

Stapfia 63,
zugleich Kataloge des OÖ. Landesmuseums,
Neue Folge Nr. 146 (1999), 139-148

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Einleitung

Alle bisher beim Alpenmurmeltier durchgeführten Untersuchungen zur Variabilität der Proteingene, also jener Erbanlagen, die für die Produktion der körpereigenen Eiweiße verantwortlich sind, deuten auf eine sehr geringe Erbvielfalt dieser Tierart hin. Mittels Enzymelektrophorese von 8430 Genproben aus 13 verschiedenen Gebieten in Österreich und zwei Schweizer Vorkommen wurde festgestellt, daß nur die zwei Genloci Pep-1 und Sod-1 allelische Variabilität aufweisen (PRELEUTHNER & PINSKER 1993). Für jeden dieser beiden Genloci wurden zwei Allele gefunden. Dabei wurden sowohl autochthone (bodenständige) Populationen als auch solche untersucht, die auf Wiedereinbürgerung von jeweils wenigen Individuen im vorigen und diesem Jahrhundert zurückzuführen sind (vgl. auch den Beitrag „Genetische Verarmung des Alpenmurmeltieres *Marmota m. marmota* in Österreich"). Schon früher haben sich mit entsprechenden Analysen bei der weitgehend isolierten autochthonen Berchtesgadener Murmeltierpopulation dieselben genetischen Varianten an denselben zwei Loci nachweisen lassen (ARNOLD 1990). Jüngste Untersuchungen der Längenvariation von Mikrosatelliten-Loci (eine spezielle Fraktion der nichtkodierenden Erbsubstanz; siehe den Beitrag von KRUCKENHAUSER et al.), die gewöhnlich so variabel sind, daß sie eine Identifikation von Einzelindividuen ermöglichen („genetischer Fingerabdruck"), ergaben für Murmeltiere aus weiten Bereichen des Vorkommens ebenfalls eine nur geringe Variabilität (KLINKICHT 1993, RASSMANN et al. 1994, PRELEUTHNER et al. 1995, KRUCKENHAUSER et al. 1997).

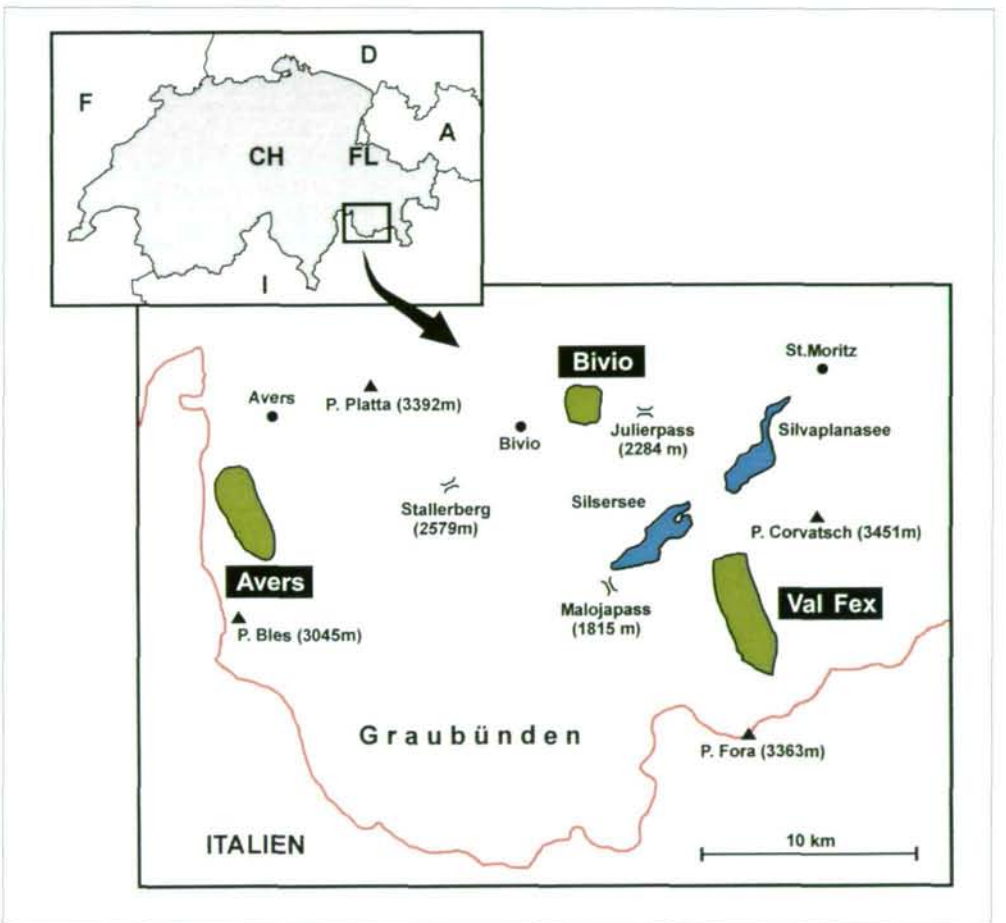


Abb. 1:
Die drei Untersuchungsgebiete (grüne Flächen) „Bivio", „Avers" und „Val Fex" im südlichen Teil des Kantons Graubünden (Schweiz).

Während bei den eingebürgerten Populationen wegen der wenigen jeweils zur Bestandesgründung herangezogenen Individuen ein Verlust an Erbvielfalt verständlich ist („Founder-Effect", siehe Beitrag von PRELEUTHNER & PINSKER), läßt sich das generell geringe Ausmaß an genetischer Variabilität auf Enzymebene bei den bodenständigen Populationen nicht so einfach erklären. Unter den verschiedenen Möglichkeiten, die zu einem Verlust an genetischer Vielfalt bei natürlichen Populationen führen können (vgl. z. B. HEDRICK 1985), haben PRELEUTHNER & PINSKER (1993) insbesondere die Hypothese vertreten, daß die gesamte Art aufgrund eines oder mehrerer Flaschenhals-Ereignisse im Verlauf der nacheiszeitlichen Besiedelung der alpinen Lebensräume generell an genetischer Vielfalt eingebüßt hat. Jüngste Untersuchungen der Mikrosatelliten-Loci bei französischen Murmeltieren ergaben aber eine durchaus reichliche Variabilität in diesem Bereich der Erbsubstanz (GOOSSENS et al. 1996, 1998). Dies kann als Hinweis auf größere Variabilität auch in anderen Teilbereichen der gesamten Erbmasse bei westalpinen Murmeltieren aufgefaßt werden. Ziel der gegenwärtigen Untersuchung war es, die Isoenzym-Variabilität bei einer großen Anzahl an Murmeltieren aus autochthonen Vorkommen der Westalpen zu ermitteln. Damit sollte entweder die Hypothese der artumfassenden genetischen Verarmung bekräftigt oder widerlegt werden.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Material und Methoden

Wir haben Leber- und Nierenproben von insgesamt 282 Murmeltieren, die aus jagdlichen Gründen im Schweizer Kanton Graubünden in den drei Gebieten „Bivio", „Avers", und „Val Fex" (siehe Abb. 1) zwischen 1994 und 1997 erlegt wurden, mit Hilfe der horizontalen Stärkegelelektrophorese und enzymspezifischer Färbungen auf Isoenzym-Varianten untersucht. Aus dem Gebiet Bivio standen uns Proben aus vier aufeinanderfolgenden Jahren (zwischen 1994 und 1997) zur Verfügung. Für die beiden anderen Gebiete waren Organproben jeweils nur von einem Jahr vorhanden. Insgesamt haben wir 48 Loci analysiert. Für das Gebiet Bivio konnten aber aus technischen Gründen nur 47 Loci für alle Jahre ausgewertet werden. Die Liste der Isoenzym-Loci ist in Tab. 1 wiedergegeben. Weitere methodische Details, insbesondere auch die Protokolle der enzymspezifischen Färbungen, finden sich in HARTL & HÖGER (1986), GRILLITSCH et al. (1992), ROTHE (1994), BRUNS et al. (im Druck). Ein Beispiel für die Gelinterpretation ist in Abb. 2 dargestellt. Die populations-genetischen und statistischen Analysen wurden mit den Programmen BIOSYS-1 PC (SWOFFORD & SELANDER 1989) und SPSS 7.5 (vgl. BÜHL & ZÖFEL 1996) durchgeführt. Details zur statistischen Analyse sind ebenfalls in BRUNS et al. (im Druck) angegeben.

Ergebnisse

Auf der Grundlage von 25.436 ausgewerteten Genproben erwiesen sich 8 der 48 Loci als polymorph. Die Polymorphierate (99 % Kriterium) beträgt für alle drei regionalen Stichproben zusammen 16,67 Prozent. Jeder polymorphe Locus wies zwei Allele auf. Die Allelfrequenzen der polymorphen Loci sind für die drei Stichprobengebiete in Abb. 3 dargestellt. Die drei untersuchten Gebiete unterscheiden sich in vielen Fällen bereits in den jeweils gefundenen Allelfrequenzen signifikant (Tab.2). Signifikante Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht waren insgesamt nur zweimal an zwei Loci (Acon in Avers, Pgm-2 in Val Fex) aufgetreten. In beiden Fällen waren signifikant weniger heterozygote Genotypen vorhanden als aufgrund der Allelfrequenzen zu erwarten gewesen wäre. Die populationsspezifischen Polymorphieraten sind, ebenso wie die beobachteten und erwarteten Heterozygotieraten, die Werte für die durchschnittliche Anzahl der Allele pro Locus, sowie die Inzuchtkoeffizienten in Tab. 3 aufgelistet. Hohe positive Inzuchtkoeffizienten weisen auf geringere Häufigkeiten von heterozygoten Genotypen hin, als sie nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu erwarten wären, negative Inzuchtkoeffizienten ergeben sich bei einem Heterozygoten-Überschuß. Die paarweisen genetischen Distanzen, welche die Differenzierung der Genpools der Populationen zueinander angeben, sind zusammen mit den paarweisen Fixationsindices, die den Anteil der relativen genetischen Variabilität, der auf die Populations-Gliederung entfällt, in Tab. 4 angegeben. Dort finden sich auch die Signifikanz-Werte für die Unterschiede in den Allel-Frequenzen. In Tab. 5 sind die Allel-Frequenzen für die polymorphen Loci in der Region Bivio für den Zeitraum 1994-1997 aufgelistet.

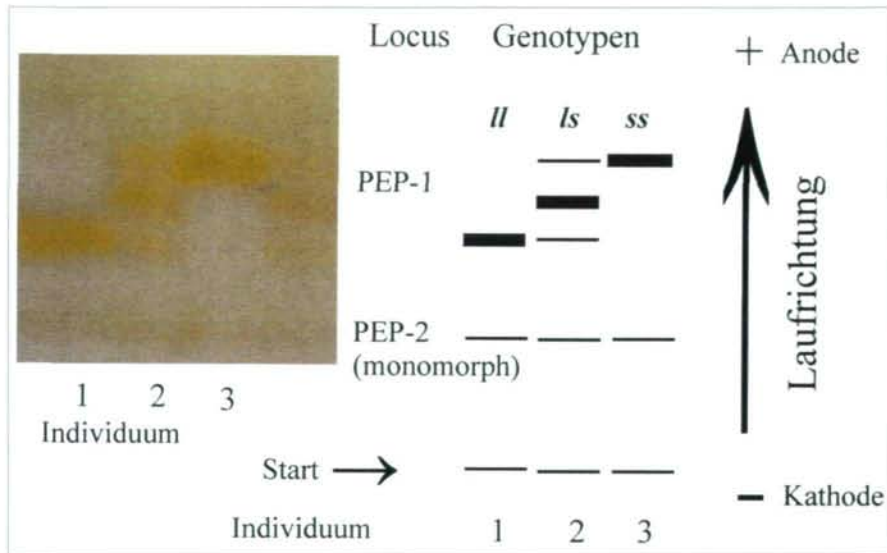


Abb. 2: Beispiel für eine Gelinterpretation. Links ein Ausschnitt aus einem originalen Gelbild mit enzymspezifischer biochemischer Färbung für Peptidase Enzyme (Locus Pep-1 und Pep-2), rechts eine Grafik zur Interpretation der Genotypen von 3 Individuen. Der Locus Pep-2 (untere Reihe) ist monomorph, der Locus Pep-1 polymorph mit den 2 Allelen "*l*" (langsames Allel, unten) und „*s*" (schneller wandernd, oben). Individuum 1 ist homozygot mit den Allelen „*ll*", entsprechend Individuum 3 mit den Allelen „*ss*". Das Individuum 2 ist heterozygot „*ls*" und zeigt die für dimere Enzymstrukturen charakteristische mittlere „Hybridbande".

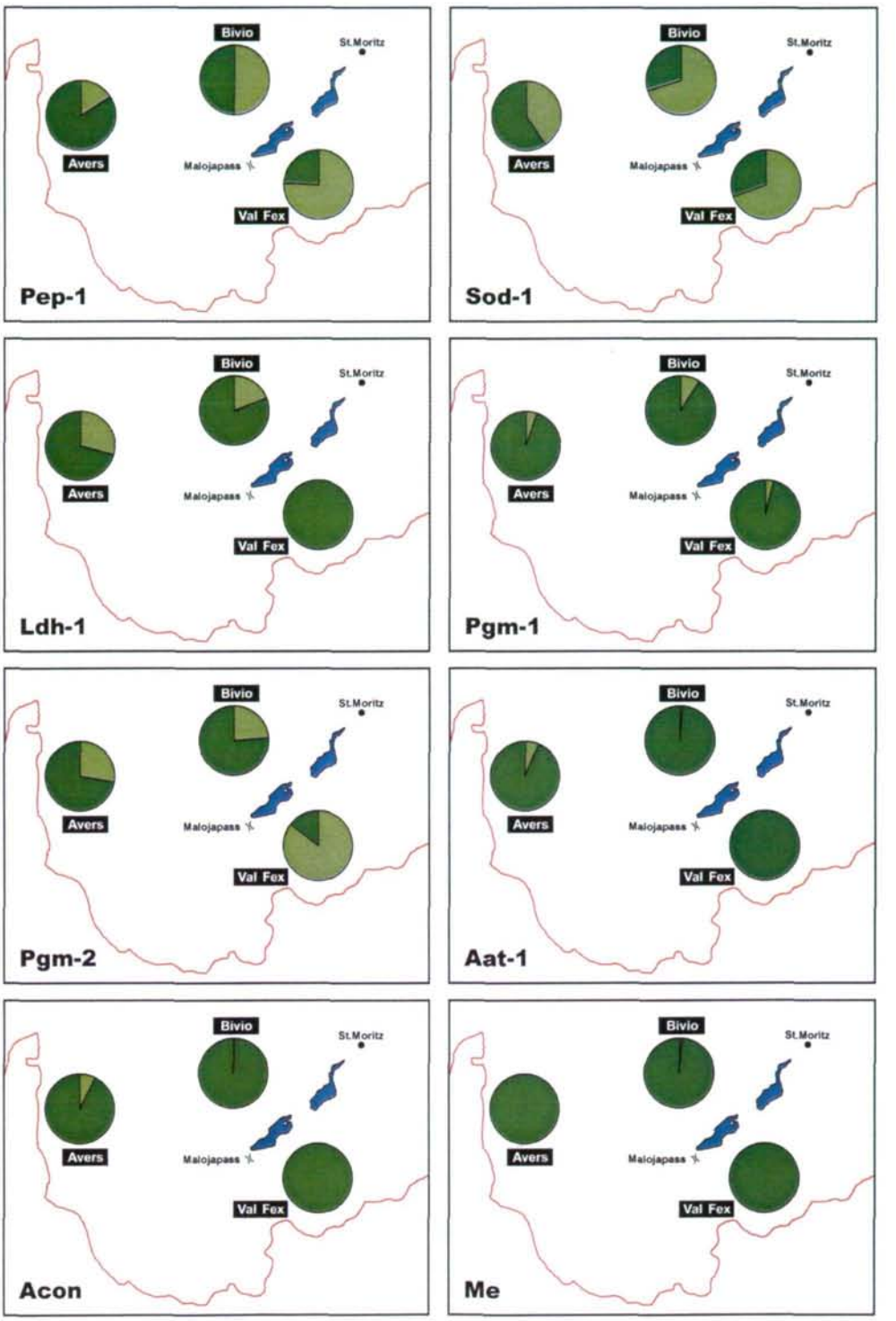
Diskussion

Genetische Vielfalt der drei Graubündner Populationen und die „Hypothese der artumfassenden genetischen Verarmung beim Alpenmurmeltier"

Die gegenwärtig untersuchten autochthonen Vorkommen des Alpenmurmeltieres im Süden des Schweizer Kanton Graubünden zeigen eine deutlich höhere genetische Vielfalt

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 3:
Allelfrequenzen (dunkelgrün = langsames Allel (l), hellgrün = schnelles Allel (s)) an den acht polymorphen Enzymloci in den drei Graubündner Murmeltierpopulationen. Signifikante Unterschiede sind aus Tab. 3 zu ersehen.



im Enzymbereich als alle bisher analysierten Vorkommen in den Ostalpen. Während bei allen ostalpinen Murmeltieren bislang nur zwei polymorphe Loci festgestellt werden konnten (ARNOLD 1990, PRELEUTHNER & PINSKER 1993), haben wir mit einem sehr ähnlichen Set an untersuchten Loci bei den Bündner Murmeltieren acht polymorphe Loci gefunden. Dies ergibt für die Bündner Gesamtstichprobe eine signifikant (p=0,039; einseitiger Fisher-Test) höhere Polymorphierate (99 % Kriterium) von 16,7 Prozent als für alle untersuchten Murmeltierpopulationen aus den Ostalpen ($P_{99\%}$ = 4,0 %; vgl. auch Beitrag von PRELEUTHNER & PINSKER). Im Vergleich mit den beiden anderen bisher untersuchten Murmeltierarten, dem nordamerikanischen Gelbbauchmurmeltier (*Marmota flaviventris*: P = 40,0 %; vgl. SCHWARTZ & ARMITAGE 1980, 1981) und dem Waldmurmeltier (M. *monax*: P = 25,0 %; WRIGHT et al. 1987), liegen die für die Bündner Population des Alpenmurmeltieres ermittelten Polymorphieraten noch immer relativ niedrig. Dies ist teilweise dadurch bedingt, daß bei den Untersuchungen der amerikanischen Murmeltierarten entweder eine relativ geringe Anzahl an Loci (24 Loci für M. *monax*) oder ein hoher Anteil an rasch evoluierenden Enzymloci (allein 4 Esterasen waren bei M. *flaviventris* polymorph) verwendet wurden. Dies erhöht die Chance polymorphe Loci zu finden erheblich (vgl. HARTL et al. 1990). Die Polymorphierate für alle von uns untersuchten Murmeltieren aus Graubünden (282 Tiere) liegt beim Vergleich mit Säugerarten aus verschiedenen Ordnungen sogar etwas über dem Mittel (Abb. 4). Die Polymorphieraten der einzelnen regionalen Bündner Populationen liegen innerhalb des Bereichs für „ungestörte" (ohne Flaschenhals-Vergangenheit) Säuger-Populationen aus verschiedenen Ordnungen, wenn nur Studien herangezogen werden, bei denen ausreichend viele Loci (mindestens 25) ausgewertet wurden (TIEDEMANN et al. 1996).

Die durchschnittliche Heterozygotierate der drei untersuchten Populationen liegt knapp unter dem Mittelwert von verschiedenen Säugetierarten, die in unserem Labor mit vergleichbaren Sets an

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Enzym-Loci analysiert wurden (Abb. 5). Die populationsspezifischen erwarteten Heterozygotie-Werte (H_e) für die Graubündner Populationen (3,2 – 4,1 %, Tab. 2) liegen ebenfalls im für Säuger aus verschiedenen Ordnungen typischen Bereich. NEVO (1978) errechnete für zahlreiche Säuger-Arten einen Durchschnittswert von 3,6 Prozent, und WOOTEN & SMITH (1985) kamen bei 138 Säuger-Arten auf eine durchschnittliche Heterozygotie von 3,9 Prozent. Der Durchschnittswert für 46 Land- und Meeres-Säugerarten beträgt nach TIEDEMANN et al. (1996) 3,9 Prozent, wenn nur Studien mit genügend Loci (mindestens 25) herangezogen werden. Allerdings weisen mehrere Untersuchungen (z.B. GORMANN & RENZI 1979, NEI 1987, LEBERG 1992) darauf hin, daß Flaschenhals-Situationen bei Popula-

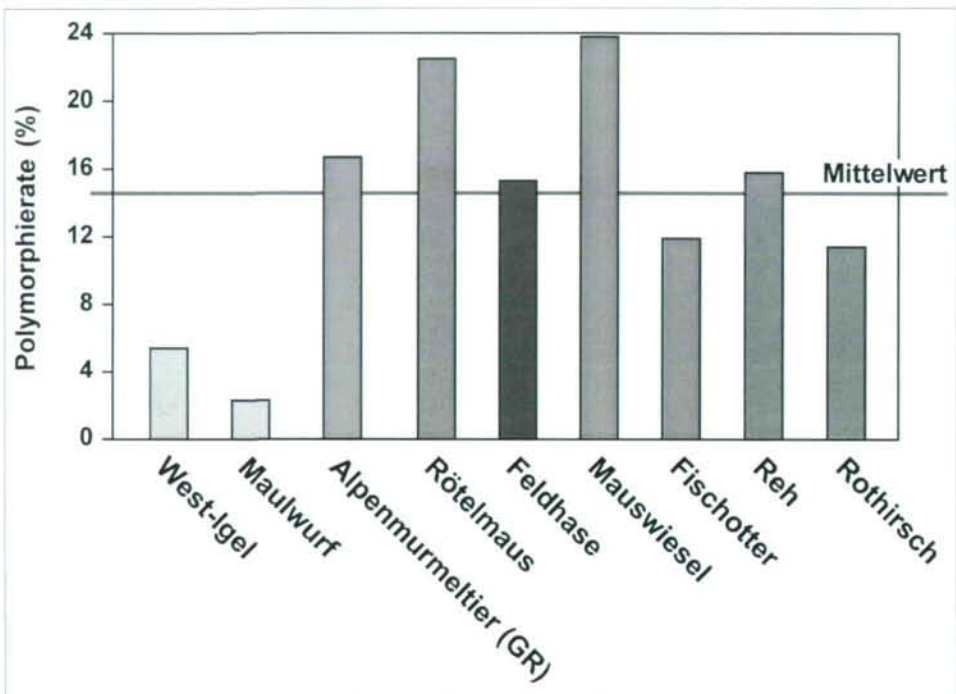


Abb. 4:
Polymorphieraten für Säugerarten aus verschiedenen Ordnungen. Die Mittelwerte ausgewählter Arten werden mit den Daten der Murmeltierpopulationen aus Graubünden verglichen. Die Werte beruhen auf z.T. unveröffentlichten Ergebnissen aus Arbeiten des Forschungsinstituts. Für jede Tierart standen mindestens 20 Individuen zur Verfügung, und es wurden pro Art mindestens 25 Enzym-Loci untersucht.

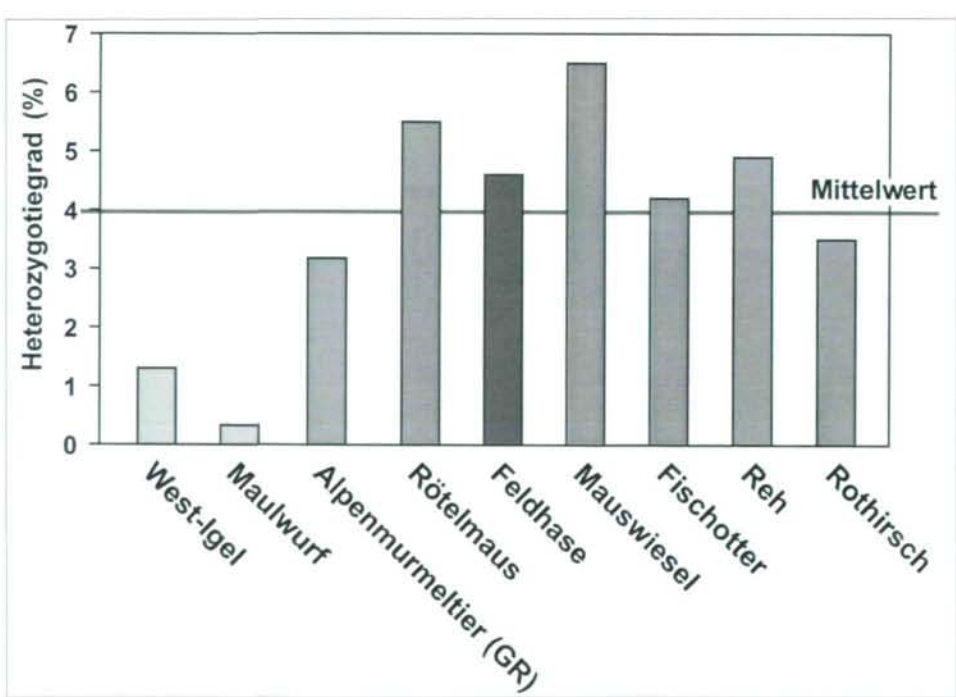


Abb. 5:
Heterozygotieraten für Säugerarten aus verschiedenen Ordnungen. Die Mittelwerte ausgewählter Arten werden mit den Daten der Murmeltierpopulationen aus Graubünden verglichen. Die Werte beruhen auf z.T. unveröffentlichten Ergebnissen. Für jede Tierart standen mindestens 20 Individuen zur Verfügung, und es wurden pro Art mindestens 25 Enzym-Loci untersucht.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

tionen nicht unbedingt zu einer Verringerung ihrer Heterozygotie führen müssen. Ja sie kann sogar nach einem Flaschenhals auch ansteigen. Deshalb sollte der Heterozygotiegrad alleine nicht als Hinweis auf einen Flaschenhals in der Vergangenheit einer Population herangezogen werden. HARTL & HELL (1994) und HARTL & PUCEK (1994) haben vorgeschlagen, das Verhältnis von Heterozygotierate und Polymorphierate (H_e/P) als Indikator für verringerte genetische Variabilität zu verwenden. Unter verschiedenen Säugetierarten haben laut TIEDEMANN et al. (1996) Populationen mit offenkundlicher Flaschenhals-Vergangenheit eine signifikant höhere H_e/P-Rate, als Populationen, die keinen offensichtlichen Flaschenhälsen ausgesetzt waren.

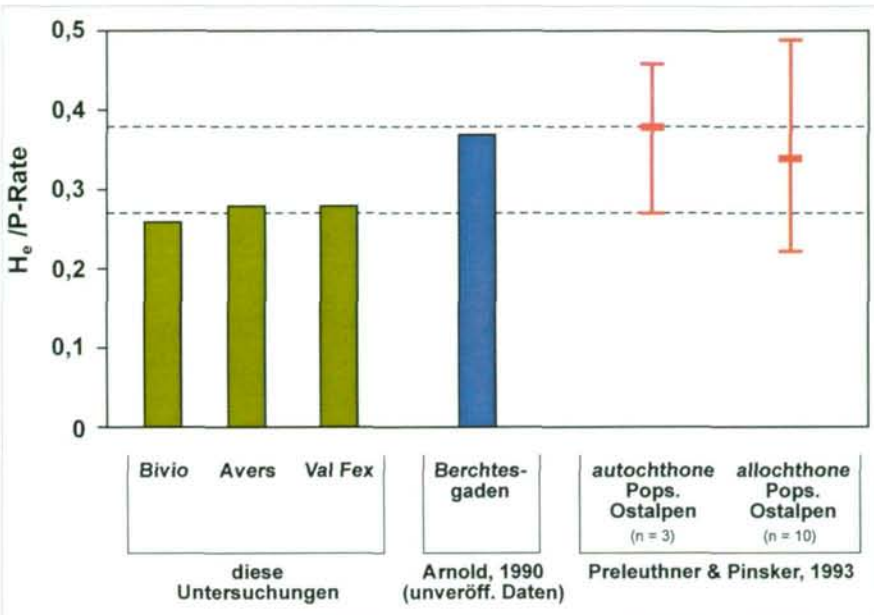


Abb. 6: Verhältnis von erwarteter Heterozygotie (H_e) und Poplymorphierate (P) in den gegenwärtig untersuchten Bündner Murmeltierpopulationen im Vergleich (Median, Minimum, Maximum) mit den entsprechenden Werten bei autochthonen (blau) und allochthonen (grün) Murmeltierpopulationen aus dem Ostalpenbereich (Wert für Berchtesgaden aus ARNOLD 1990 und unveröff. Daten; die anderen Werte sind aus den Angaben von PRELEUTHNER & PINSKER 1993 berechnet). Die beiden horizontalen Linien markieren die Durchschnittswerte der H_e/P-Rate für ungestörte (untere Linie) und gestörte (obere Linie) Populationen verschiedener Säugerarten (nach Daten von TIEDEMANN ET AL. 1996).

In Abb. 6 sind die H_e/P-Raten für die drei Bündner Murmeltierpopulationen zusammen mit den entsprechenden Werten für autochthone und allochthone Populationen aus dem Ostalpenraum dargestellt. Während die Werte für die Bündner Populationen im mittleren Bereich von ungestörten Populationen verschiedener Säugerarten liegen, sind die Werte für die ostalpinen Murmeltierpopulationen erhöht. Letzteres gilt sowohl für allochthone als auch autochthone Populationen. Auch die früher untersuchte autochthone Population aus Berchtesgaden (ARNOLD 1990) zeigt einen höheren Wert als die gegenwärtig untersuchten Populationen. Dies paßt zu der Auffassung, daß die Berchtesgadener Population in ihrer Geschichte einem oder mehreren Flaschenhälsen ausgesetzt war und außerdem geographisch relativ stark isoliert ist (ARNOLD 1990, PRELEUTHNER & PINSKER 1993, PRELEUTHNER et al. 1995, RASSMANN et al. 1994, BRUNS 1997).

Trotz der vergleichsweise geringen geographischen Distanzen zwischen den drei Bündner Untersuchungsgebieten (Abb. 1) zeigen sich signifikante Unterschiede in den Allelfrequenzen an mehreren Loci (Abb. 2), und die Anzahl der polymorphen Loci schwankt um das Doppelte (zwischen vier und acht). Obwohl aus dem Gebiet Val Fex 41 Tiere untersucht wurden, haben wir dort nur 75 % aller Allele der polymorphen Loci gefunden. Im Untersuchungsgebiet Bivio zeigen zwei Loci (Acon, Me) nur in einem der vier Jahre einen Polymorphismus (Tab. 4). Dies könnte teilweise erklären, weshalb in den früheren Untersuchungen von zwei Schweizer Murmeltierpopulationen durch PRELEUTHNER & PINSKER (1993) einige der jetzt polymorphen Loci monomorph waren, da die Autoren eine deutlich geringere Individuen-Stichprobenzahl zur Verfügung hatten. Außerdem kann auch eine zeitliche Änderung von Allelfrequenzen an polymorphen Loci bei den Murmeltieren im Schweizer Untersuchungsgebiet dafür mitverantwortlich sein.

Im Lichte der gegenwärtigen Ergebnisse kann die Hypothese von der artumfassenden genetischen Verarmung beim Alpenmurmeltier nicht aufrecht erhalten werden. Die gegenwärtig untersuchten Bündner Murmeltiere weisen durchaus eine im „Normalbereich für Säuger" liegende genetische Variabilität auf, und das Ergebnis spricht nicht für Flaschenhälse in ihrer Populationsgeschichte. Im Gegensatz dazu zeigen die umfassenden Ergebnisse zur Enzymvariabilität und zur Variabilität der Mikrosatelliten-Loci der ostalpinen Murmeltiervorkommen (ARNOLD 1990, PRELEUTHNER & PINSKER 1993, PRELEUTHNER et al. 1995, RASSMANN et al. 1994, BRUNS 1997) eine weitgehende genetische Verarmung. Diese kann sich schon in den außeralpinen Vorkommen während der letzten Eiszeit aufgrund von drastischen Populationszusammen-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

brüchen oder auch während der postglazialen Besiedlungsphase der alpinen Lebensräume ergeben haben. Eventuell sind die späteiszeitlichen westalpinen Murmeltierpopulationen, bevor sie in die freiwerdenden Alpengebiete eingewandert sind, nicht von vorangegangenen eiszeitlichen Populationszusammenbrüchen betroffen gewesen und haben daher mehr genetische Variabilität erhalten können; oder aber die nacheiszeitliche Besiedlungsphase in den Westalpen und die späteren Populationsentwicklungen waren nicht so sehr von Flaschenhälsen und geographischen Isolationseffekten betroffen wie die Murmeltiere in den autochthonen Populationen der Ostalpen. Die signifikante genetische Differenzierung, die wir zwischen den drei gegenwärtig untersuchten Bündner Populationen feststellen konnten (siehe Tab. 4), weist aber darauf hin, daß selbst in Lebensräumen mit offensichtlich weiter, nicht stark verinselter Verbreitung (MÜLLER 1996), über relativ geringe geographische Distanz Genflüsse zwischen Murmeltiervorkommen in unterschiedlichem Ausmaß verringert sein können. Dadurch wird eine eigenständige Entwicklung von regionsspezifischen Genpools beim Alpenmurmeltier gefördert. Die gegenwärtig untersuchte Schweizer Region könnte ein Gebiet darstellen, in das Murmeltiere aus verschiedenen eiszeitlichen Refugien (südlich, nordwestlich und nordöstlich des Alpenbogens) eingewandert sind. Eine umfassende Analyse der geographischen Strukturierung der westalpinen Murmeltiervorkommen könnte Aufschluß über die nacheiszeitliche Besiedlungsgeschichte von verschiedenen glazialen Refugien geben.

Zusammenfassung

Organproben von 282 Alpenmurmeltieren (*Marmota m. marmota*) aus drei Sammelgebieten des Kantons Graubünden (Schweiz) wurden mittels horizontaler Stärkegelelektrophorese und enzym-spezifischer Färbungen auf allelische Variabilität an 48 Isoenzym-Loci untersucht. Ziel der Studie war es, die früher aufgestellte Hypothese von einer artumfassenden genetischen Verarmung des Alpenmurmeltieres zu überprüfen. Acht Loci wiesen diallelische Polymorphismen auf. Die Polymorphierate betrug für alle Murmeltiere 16,7 Prozent und war signifikant (p=0,039) höher als die früher für ostalpine Murmeltiere gefundene. Die H_e/P-Raten der drei lokalen Bündener Populationen lagen im Bereich derer von „ungestörten" (d.h., nicht durch Flaschenhals beeinflußten) Säugerpopulationen aus verschiedenen Ordnungen. Die Hypothese einer artumfassenden genetischen Verarmung beim Alpenmurmeltier kann somit nicht aufrecht erhalten werden.

Danksagung

Wir danken Dr. Peider RATTI (Kantonaler Jagd- und Fischereiinspektor, Chur, Graubünden) und seinen Wildhütern für die Erlaubnis und die Organisation der Probennahme. Prof. W. ARNOLD (Wien) regte die Untersuchungen an und das Team vom Forschungsinstitut f. Wildtierkunde u. Ökologie (Veterinärmed. Universität Wien) half bei der Probennahme. Prof. P. LANFRANCHI (Universität Mailand), sein Team und Dr. S. CALDEROLA (Ozzano/Bologna) halfen ebenfalls bei der Probennahme und Weiterversorgung. Die Grafiken wurden von A. KÖRBER (Wien) erstellt. Die Schweizerische Bankgesellschaft unterstützte dieses Projekt in Teilen.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 1:
Untersuchte Isoenzyme/-Systeme, Abkürzungen, E.C. Codes, Anzahl der analysierten Loci (NL) und jeweils verwendete Organproben (L = Leber, N = Niere, H = Herz) sind angegeben. Literaturhinweise bzgl. der verwendeten enzymspezifischen Färbungen sind bei GRILLITSCH et al. (1992) angegeben.

Isoenzym/-System	Abkürzung	E.C.-Nr.	N_L	Organ-Probe
Alcohol Dehydrogenase	ADH	1.1.1.1	1	L
α-Glycerophosphat Dehydrogenase	α-GPDH	1.1.1.8	1	L
Sorbitol Dehydrogenase	SDH	1.1.1.14	1	L
Lactat Dehydrogeanse	LDH	1.1.1.27	2	N
Malat Dehydrogenase	MDH	1.1.1.37	2	N
Malat Enzym	ME	1.1.1.40	1	L, N
Isocitrat Dehydrogenase	IDH	1.1.1.42	2	N
6-Phosphogluconat Dehydrogenase	PGD	1.1.1.44	1	N
Glucose Dehydrogenase	GDH	1.1.1.47	1	L
Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase	G-6-PD	1.1.1.49	1	L
Glyceraldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase	GAPDH	1.2.1.12	1	L
Xanthin Dehydrogenase	XDH	1.2.3.2	1	L
Glutamat Dehydrogenase	GLUD	1.4.1.3	1	L
NADH-Diaphorase	DIA	1.6.2.2	1	N
Catalase	CAT	1.11.1.6	1	N
Superoxid Dismutase	SOD	1.15.1.1	1	L
Purin Nucleosid Phosphorylase	NP	2.4.2.1	1	L
Aspartat Aminotransferase	AAT	2.6.1.1	2	N
Glutamat Pyruvat Transaminase	GPT	2.6.1.2	1	L
Hexokinase	HK	2.7.1.1	2	L
Pyruvat Kinase	PK	2.7.1.40	1	H
Phosphoglycerat Kinase	PGK	2.7.2.3	1	N
Creatin Kinase	CK	2.7.3.2	2	L
Adenylat Kinase	AK	2.7.4.3	2	L
Phosphoglucomutase	PGM	2.7.5.1	2	N
Esterasen	ES	3.1.1.1	1	N
Fructose-1,6-Disphosphatase	FDP	3.1.3.11	1	L
Saure Phosphatase	ACP	3.1.3.2	1	N
β-Glucuronidase	β-GUS	3.2.1.31	1	L
Peptidasen	PEP	3.4.11	1	L
Leucinamino Peptidase	LAP	3.4.11.1	1	N
Amino Acylase-1	ACY-1	3.5.1.14	1	N
Adenosin Deaminase	ADA	3.5.4.4	1	N
Aldolase	ALD	4.1.2.13	1	H
Carbonat Dehydrogenase	CA	4.2.1.1	1	N
Fumarat Hydratase	FH	4.2.1.2	1	N
Aconitase	ACON	4.2.1.3	1	N
Glyoxalase	GLO	4.4.1.5	1	L
Mannose-6- Phosphat Isomerase	MPI	5.3.1.8	1	N
Glucose Phosphat Isomerase	GPI	5.3.1.9	1	N

Tabelle 2:
Signifikanzwerte für paarweise Allelfrequenz-Vergleiche zwischen den drei Untersuchungsgebieten. Signifikanz anhand von G- oder Fisher's exact Tests und sequentiellem Bonferroni-Verfahren, das für mehrmaliges Testen korrigiert. n. s. = nicht signifikant.

Locus		Bivio (1)	Val Fex (2)	Avers (3)	Locus		Bivio (1)	Val Fex (2)	Avers (3)
Pep-1	(1)	-	<0.001	<0.001	Sod-1	(1)	-	n.s.	<0.001
	(2)		-	<0.001		(2)		-	<0.001
	(3)			-		(3)			-
Ldh-1	(1)	-	<0.001	<0.001	Pgm-1	(1)	-	n.s.	n.s.
	(2)		-	<0.001		(2)		-	n.s.
	(3)			-		(3)			-
Pgm-2	(1)	-	<0.001	n.s.	Aat	(1)	-	n.s.	n.s
	(2)		-	<0.001		(2)		-	n.s.
	(3)			-		(3)			-
Acon	(1)	-	n.s.	n.s.	Me	(1)	-	n.s.	n.s.
	(2)		-	n.s.		(2)		-	n.s.
	(3)			-		(3)			-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 3:
Populationsspezifische durchschnittliche beobachtete (H_O) und erwartete (H_e) Heterozygotieraten, Polymporphieraten (99% Kriterium), durchschnittliche Anzahl von Allelen pro Locus (A) und Inzuchtkoeffizienten (F_{IS}) bei den drei Graubündner Murmeltierpopulationen. In Klammern sind jeweils die Standardfehler angegeben. Alle Werte beruhen auf 48 untersuchten Loci.

	BIVIO		AVERS		VAL FEX	
Ho	0,038	(0,017)	0,038	(0,016)	0,021	(0,012)
He	0,038	(0,016)	0,041	(0,017)	0,023	(0,013)
P	14,58		14,58		8,33	
A	1,17	(0,05)	1,15	(0,05)	1,08	(0,04)
Fis	-0,005		0,06		0,08	

Tabelle 4:
Paarweise genetische Distanzen zwischen den drei Bündner Murmeltier-Gebieten.
Über der Dagonale: Nei's (1978) D (erste Reihe) und modifizierte Rogers' Distanzen (Wright 1978) (zweite Reihe); unter der Diagonale: F_{ST} -Werte (erste Reihe) und Signifikanz-Werte für F_{ST} ist größer als 0,0 (zweite Reihe).

	BIVIO	VAL FEX	AVERS
BIVIO	-	0.010 0.100	0.005 0.069
VAL FEX	0.142 p<0.001	-	0.018 0.134
AVERS	0.058 p<0.001	0.222 p<0.001	-

Tabelle 5:
Allel-Frequenzen (f(l) = langsames Allel, f(s) = schnelles Allel) für die polymorphen Loci in Bivio von 1994 bis 1997. n = Anzahl der Individuen.

Locus		1994	1995	1996	1997
n		9	48	73	64
Pep-1	f(l)	0.667	0.521	0,5	0,484
	f(s)	0.333	0.479	0,5	0,516
Sod-1	f(l)	0.389	0.396	0.301	0.305
	f(s)	0.611	0.604	0.699	0.695
Ldh-1	f(l)	0.772	0.885	0.746	0.892
	f(s)	0.222	0.115	0.254	0.108
Pgm-1	f(l)	0.722	0.958	0.904	0.969
	f(s)	0.278	0.042	0.096	0.031
Aat	f(l)	0.889	0.927	0.993	0.992
	f(s)	0.111	0.073	0.007	0.008
Acon	f(l)	1.0	1.0	0.986	1.0
	f(s)	0.0	0.0	0.014	0.0
Me	f(l)	1.0	1.0	0.986	1.0
	f(s)	0.0	0.0	0.014	0.0

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Literaturverzeichnis

ARNOLD W. (1990): The evolution of marmot sociality: I. Why disperse late? — Behav. Ecol. and Sociobiol. **27**: 229-237.

BÜHL A. & P. ZÖFEL (1996): SPSS für Windows Version 6.1. Praxisorientierte Einführung in die moderne Datenanalyse. — 3. Aufl. Addison-Wesley-Longman.

BRUNS U. (1997): Untersuchungen zu Grad und Häufigkeit von Inzucht beim Alpenmurmeltier (*Marmota m. marmota*) mittels DNA- fingerprinting. — Diplomarbeit, Univ. Marburg/L., Deutschland, 80 +25 pp.

BRUNS U., HAIDEN A. & F. SUCHENTRUNK (im Druck): Allozyme variability in autochthonous colonies of Swiss Alpine marmots (*Marmota m. marmota*): a confirmation of the „species – wide bottleneck hypothesis"? — Folia Zool. (Suppl.).

GORMAN G.C. & J. RENZI (1979): Genetic distances and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: effects of sample sizes. — Copeia **2**: 242-249.

GOOSSENS B., COULON J., ALLAINE D., GRAZIANI L., BEL, M.-C. & P. TABERLET (1996): Immigration of a pregnant female in an alpine marmot family group: behavioural and genetic data. — C.R. Acad. Sci. Paris **319**: 241-246.

GOOSSENS B., GRAZIANI L., WAITS L. P., FARAND E., MAGNOLON S., COULON J., BEL, M.-C., TABERLET P. & D. ALLAINÉ (1998): Extra-pair paternity in the monogamous Alpine marmot revealed by nuclear DNA microsatellite analysis. — Behav. Ecol. Sociobiol. **43**: 281-288.

GRILLITSCH M., HARTL G.B., SUCHENTRUNK F. & R. WILLING (1992): Allozyme evolution and the molecular clock in the Lagomorpha. — Acta Theriol. **37**: 1-13.

HARTL G.B. & P. HELL (1994): Maintenance of high levels of allelic variation in spite of a severe bottleneck in population size: the brown bear (*Ursus arctos*) in the Western Carpathians. — Biodiv. and Conserv. **3**: 546-554.

HARTL G.B. & Z. PUCEK (1994): Genetic depletion in the European Bison (*Bison bonasus*) and the significance of electrophoretic heterozygosity for conservation. — Conserv. Biol. **8**: 167-174.

HARTL G.B. & H. HÖGER (1986): Biochemical variation in purebred and crossbred strains of domestic rabbits *Oryctolagus cuniculus* L. — Genet. Res. (Camb.) **48**: 27-34.

HARTL G.B., WILLING R. & F. SUCHENTRUNK (1990): On the biochemical systematics of selected mammalian taxa: empirical comparison of qualitative and quantitative approaches in the evaluation of protein electrophoretic data. — Z. zool. Syst. Evolut. Forsch. **28**: 191-216.

HEDRICK P.W. (1985): Genetics of Populations. — Jones & Bartlett Publ., Inc. Boston.

KLINKICHT M. (1993): Untersuchungen zum Paarungssystem des Alpenmurmeltieres (*M. m. marmota*) mittels DNA-Fingerprinting. — Dissertation, Universität München.

KRUCKENHAUSER L., MILLER W.J., PRELEUTHNER M. & W. PINSKER (1997): Differentiation of Alpine marmot populations traced by DNA fingerprinting. — J. Zool. Syst. Evol. Research **35**: 143-149.

LEBERG P.L. (1992): Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. — Evolution **46**: 477-494.

MÜLLER J.P. (1996): Das Murmeltier. — Desertina-Vlg. Chur.

NEI M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distances from a small number of individuals. — Genetics **89**: 583-590.

NEVO E. (1978): Genetic variation in natural populations: patterns and theory. — Theor. Pop. Biol. **13**: 121-171.

PRELEUTHNER M. & W. PINSKER (1993): Depauperated gene pools in *Marmota m. marmota* are caused by an ancient bottle neck: electrophoretic analysis of wild populations from Austria and Switzerland. — Acta Theriol. **38** Suppl. 2: 121-139.

PRELEUTHNER M., PINSKER W, KRUCKENHAUSER L, MILLER W.J. & H. PROSL (1995): Alpine marmots in Austria. The present population structure as a result of the postglacial distribution history. — Acta Theriol. Suppl. **3**: 87-100.

RASSMANN K, ARNOLD W. & D. TAUTZ (1994): Low genetic variability in a natural alpine marmot population (*Marmota marmota*, Sciuridae) revealed by DNA fingerprinting. — Mol. Ecol. **3**: 347-353.

ROTHE G.M. (1994): Electrophoresis of Enzymes - Laboratory Methods. — Springer LAB Manual Berlin..

SCHWARTZ O.A. & K.B. ARMITAGE (1980): Genetic variation in social mammals: The marmot model. — Science **207**: 665-667.

SCHWARTZ O.A. & K.B. ARMITAGE (1981): Social structure and dispersion of genetic variation in the yellow-bellied marmot (*Marmota flaviventris*). — In: SMITH, M.H. & JOULE, J. (eds). Mammalian population genetics. The University of Georgia Press, Ahtens, pp. 139-159.

SWOFFORD D.L. & R.B. SELANDER (1989): BIOSYS-1. A PC program for the analysis of allelic variation in Genetics. — University of Illinois.

TIEDEMANN R, HAMMER S, SUCHENTRUNK F. & G.B. HARTL (1996): Allozyme variability in medium-sized and large mammals: determinants, estimators, and significance for conservation. — Biodiv. Lett. **3**: 81-91.

WRIGHT S. (1978): The genetic structure of populations. Vol. 4: Variability within and among natural populations. — Univ. Chicago Press, Chicago.

WRIGHT J., TENNANT B.C. & B. MAY (1987): Genetic variation between woodchuck populations with high and low prevalence rates of woodchuck hepatitis virus infection. — J. Wildl. Diseases **23**: 186-191.

WOOTEN M.C. & M.H. SMITH (1985): Large mammals are genetically less variable? — Evolution **39**: 210-212.

Anschriften der Verfasser:

Dipl.-Biol. Ute BRUNS, Anita HAIDEN, Dr. Franz SUCHENTRUNK
Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien,
Savoyenstraße 1,
A-1160 Wien
Austria
ute.bruns@vu-wien.ac.at
anita.haiden@vu-wien.ac.at
franz.suchentrunk@vu-wien.ac.at